

Identification and Quantitative Analysis of Bioflavonoids by Paper and Thin Layer Chromatography Methods

Olga Duda¹, Yana Stepnevskaya²,
Olena Vashkevych³

Department of Analytical Chemistry, Ukrainian State
University of Chemical Technology,
8 Gagarin Ave., Dnipropetrovsk, 49005, UKRAINE,

¹ E-mail: olya.corso@gmail.com

³ E-mail: vashkevich_evgeniya@mail.ru

² Department of Biotechnology and Life Safety,
Ukrainian State University of Chemical Technology,
8 Gagarin Ave., Dnipropetrovsk, 49005, UKRAINE,
E-mail: 467436@rambler.ru

Flavonoids are very widely spread bioactive substances. They possess vitamin activity, antiseptic and antioxidation properties. This is the reason for their wide application in cosmetic and food industries.

Thus, the development of methods for the determination of bioflavonoids by means of thin layer and paper chromatography is urgent. It will allow chromatographical separation and quantitative determination of flavonoids, namely rutin and quercetin.

The optimal conditions for carrying out chromatographic analysis have been determined by ascending method.

The optimal reagent-developers were chosen for paper chromatography and chromatography on thin layer of sorbent; they are aluminium and zirconium ions.

The best solvent system both for TLC and PM is the system butanol:acetic acid:water (4 : 1 : 5), which allows qualitative and quantitative separation on quercetin and rutin in the mixture.

The impact of pH of the medium of initial substances on chromatography analysis was determined. The optimal values fall within the range 5.5-5.7.

The technique for the quantitative analysis of flavonoids was developed. It allows determination of rutin and quercetin in broad enough range of $5 \cdot 10^{-2}$ mol/l – $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l. It was approbated on model solutions of cosmetics, which contained introduced solutions of rutin and quercetin.

The developed technique can be applied for qualitative and quantitative analysis of flavonoids in cosmetics and food industry. It is easy, precise, expressive and available for use by different enterprises.

Translated by Polyglot Translation Bureau
<http://www.polyglot-lviv.com>

Ідентифікація та кількісне визначення біофлавоноїдів методами паперової та тонко-шарової хроматографії

Ольга Дуда¹, Яна Степневська²,
Олена Вашкевич³

Кафедра аналітичної хімії, ДВНЗ “Український
державний хіміко-технологічний університет”, УКРАЇНА,
м. Дніпропетровськ, вул. Гагаріна, 8,
¹ E-mail: olya.corso@gmail.com

³ E-mail: vashkevich_evgeniya@mail.ru

² Кафедра біотехнології та безпеки життєдіяльності,
ДВНЗ “Український державний хіміко-технологічний
університет”, УКРАЇНА, м. Дніпропетровськ,
вул. Гагаріна, 8, E-mail: 467436@rambler.ru

Розроблена методика кількісного та якісного визначення біофлавоноїдів рутину та кверцетину за допомогою паперової (ПХ) та тонкошарової хроматографії (ТШХ). Підбрано оптимальні умови проведення хроматографування. Використання системи розчинників бутанол : оцтова кислота : вода (4:1:5) дозволяє розділити флавоноїди (рутин та кверцетин). В якості проявників запропоновано використовувати AlCl_3 та ZrOCl_2 , що дозволяє визначати рутин та кверцетин у досить широкому інтервалі $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л – $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л. рН вихідних розчинів має бути в діапазоні 5,5-7,5 одиниць.

Розроблена методика опробована на модельних розчинах лосьонів, у які було введено розчини рутину та кверцетину, та має задовільні метрологічні характеристики. За методом ПХ довірчий інтервал отриманих результатів знаходиться в інтервалі: $0,146 \pm 0,0037$ – для водного розчину кверцетину, $0,263 \pm 0,0037$ – водного розчину рутину; за методом ТШХ отримані значення знаходяться в інтервалі: $0,166 \pm 0,005$ – для водного розчину кверцетину, $0,272 \pm 0,0019$ – водного розчину рутину.

Ключові слова – біофлавоноїди, рутин, кверцетин, паперова хроматографія, тонкошарова хроматографія.

I. Вступ

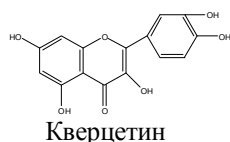
Флавоноїди це найбільш числена група природних фенольних сполук. Вони є цінними компонентами косметичних засобів, а також їх використовують в якості БАД за рахунок того, що вони мають добре виражену Р-вітамінну активність. Крім того, ці речовини мають антиоксиданту, протизапальну, анти-мікробну дію, уповільнюють процес старіння шкіри. Завдяки цим властивостям їх можна зустріти в таких косметичних засобах як лосьони, захисні креми, засоби проти старіння шкіри, тоніки, ополіскувачі ротової порожнини та багатьох інших, а також у складі біологічно активних добавок.

II. Властивості біофлавоноїдів

Флавоноїди знаходяться майже у всіх рослинах. Деякі є рослинними пігментами й виконують роль фільтрів, захищаючи тканини від шкідливого впливу

ультрафіолетових променів. Флавоноїдам властива висока біологічна активність, обумовлена присутністю в молекулі активних фенольних гідроксильних і карбонільних груп, які зазнають різних біохімічних змін, беруть участь у ряді фізіологічних процесів і мають широкий спектр фармакологічної активності. Вони синтезуються виключно в клітинах рослин.

Найчастіше, у продукти харчування та косметичні засоби в якості БАД, вводять такі флавоноїди як рутин та кверцетин. Вони мають схожі фізико-хімічні властивості та подібну структуру (рутин є глікозидом кверцетину), тому у косметичних засобах вони завжди присутні одночасно [1].



III. Експериментальна частина

Більшість методів проведення кількісного та якісного аналізу флавоноїдів є довготривалими, трудомісткими, потребують дорогого обладнання і тому не можуть бути реалізовані в умовах невеликих підприємств. Тому, актуальною є розробка методики визначення біофлавоноїдів за допомогою ТШХ та ПХ, що дозволяє хроматографічно розділити та кількісно визначити флавоноїди. [2-3].

Для дослідів було взято спиртові та водні розчини рутину та кверцетину, та проведено ПХ та ТШХ висхідним методом. Які засновані на відмінності у швидкості переміщення компонентів аналізованої суміші на папері (пластинці) в потоці розчинника (елюента). Для проведення дослідів було використано "Ватман №1" (для ПХ) та пластини марки Sorbfil (ТШХ).

Одним з найважливіших факторів для проведення хроматографування є підбір системи розчинника, що залежить від природи сорбенту й властивостей аналізованих сполук. Застосовано суміші із двох або трьох компонентів з різними полярностями. Сорбційні властивості системи характеризуються величиною R_f , яка розраховується за експериментальними даними. Зроблено висновки, що оптимальною системою розчинників, як у випадку з ПХ так і при ТШХ, є система бутанол : оцтова кислота : вода. При ПХ з елюентом бутанол:оцтова кислота:вода (4:1:5) для водного розчину кверцетину $R_f = 0,36$, водного розчину рутину $R_f = 0,42$, спиртового розчину кверцетину $R_f = 0,52$, спиртового розчину рутину $R_f = 0,7$. При використанні ТШХ з розчинником бутанол : оцтова кислота : вода (4:1:5) для водного розчину кверцетину $R_f = 0,41$, водного розчину рутину $R_f = 0,38$, спиртового розчину кверцетину $R_f = 0,57$, спиртового розчину рутину $R_f = 0,48$.

У ході експерименту було підібрано оптимальний реагент-проявник, якими є $AlCl_3$ та $ZrOCl_2$ утворюючи комплекси цих речовин, що впливає на хроматофорну систему. Це викликає батохромний зсув, що

дозволяє побачити зони на хроматограмі при видимому світлі, та гіперхромний ефект, що дає можливість визначення розчинів з меншими концентраціями.

Важливим є і вплив рН середовища вихідних розчинів. Досліджено, що при зменшенні рН (менше ніж 4,5) значення R_f також зменшується до 0,1 – 0,2, а при зростанні рН (більше ніж 8) R_f зростає до 0,9. Таким чином, оптимальне значення рН середовища вихідних розчинів знаходиться в інтервалі 5,5 – 7,5.

За допомогою ПХ та ТШХ можливе і кількісне визначення рутину та кверцетину, застосовуючи градувальний графік, де лінійна залежність спостерігаємо у досить широкому інтервалі концентрацій $5 \cdot 10^{-2}$ – $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Проведено аналіз модельного розчину лосьйону. Враховуючи імовірну помилку, довірчий інтервал отриманих результатів за методом ПХ знаходиться в інтервалі: $0,146 \pm 0,0037$ – для водного розчину кверцетину, $0,263 \pm 0,0037$ – водного розчину рутину. Використовуючи метод ТШХ отримані значення знаходяться в інтервалі: $0,166 \pm 0,005$ – для водного розчину кверцетину, $0,272 \pm 0,0019$ – водного розчину рутину.

Таким чином це свідчить про достатню чутливість методики та відтворюваність результатів.

Висновок

Розроблена методика хроматографічного визначення флавоноїдів може застосовуватись для якісного та кількісного визначення кверцетину та рутину в суміші, що дозволяє її широко застосовувати у косметичній та харчовій промисловості. Доведено, що оптимальними проявниками для водних та спиртових розчинів цих речовин є $AlCl_3$ та $ZrOCl_2$. Підібрано систему розчинників бутанол : оцтова кислота : вода (4 : 1 : 5). Оптимальне значення рН середовища вихідних розчинів знаходиться в інтервалі 5,5 – 7,5. Розроблена методика дозволяє визначити рутин та кверцетин у досить широкому інтервалі $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л – $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

Данна методика опробована на модельних розчинах косметичних засобів (лосьйонів), у які було введено розчини рутину та кверцетину.

Розроблена методика є точною та експресною.

Література

- [1] Э.Х. Ботиров, А.А. Дренин, А.В. Макарова. Химическое исследование флаваноидов лекарственных растений // Химия растительного сырья. Сургут : 2006. – С. 72 – 78.
- [2] Максютин Н.П., Каган Ф.Е. Методы идентификации лекарственных препаратов. – К.:Здоровье, 1979. – 240с.
- [3] Краснов Е.А., Березовская Т.П. Выделение и анализ биологически активных веществ. – Томск : Изд. Том.ун-та, 1987. – 184 с.